

Guide d'utilisation du système HPLC

I / Mise en marche du système :

Pour mettre en marche la chaîne HPLC, il faut d'abord allumer chaque module. Un interrupteur d'alimentation est présent à l'arrière du détecteur, de la pompe et de l'autosampler. Une fois les trois modules mis en marche, il faut démarrer le PC et appuyer sur « ok » sans insérer de mot de passe sur la page de connexion à la session.

II / Préparation de l'échantillon et de l'appareil :

La configuration du système HPLC présent au Fablab comprend : une pompe *Solvent Module 126*, essentielle pour faire circuler la phase mobile à travers la colonne sous haute pression, généralement entre 1000 et 5000 psi ; un injecteur automatique *Autosampler 508*, qui introduit l'échantillon dans le flux de phase mobile de façon automatique, reproductible et précise ; une colonne C18 en phase inverse de 20 cm de la gamme *Gemini* de *Phenomenex*, contenant la phase stationnaire en silice, qui est l'élément central où se produit la séparation des composants de l'échantillon ; une phase mobile comprenant de l'eau (solvant A) et de l'acétonitrile (solvant B), stockés dans deux bouteilles distinctes, permettant d'optimiser la séparation des composés ; un détecteur DAD (Diode Array Detector) *Detector 168*, qui permet de mesurer l'absorbance de l'échantillon sur une large gamme de longueurs d'onde simultanément ; un système d'acquisition de données opérant sous Windows 2000 qui permet d'enregistrer et d'analyser les signaux du détecteur via le logiciel *32 Karat*.

Une image contenant intérieur

Pour pouvoir analyser un échantillon avec un injecteur automatique, il faut un matériel spécifique. Nous devons utiliser des **vials**, qui sont des petits tubes en verre d'un volume de 2 ml, pour pouvoir stocker l'échantillon à analyser. Un bouchon en caoutchouc, appelé **septum**, viens recouvrir le vial. Le septum est conçu pour être percé par l'aiguille de l'autosampler de l'HPLC, permettant ainsi l'introduction de l'échantillon dans le système sans exposer le contenu du vial à l'air extérieur. Ce vial est ensuite placé dans les compartiments de l'autosampler afin d'être analysé.

Si votre solution à analyser n'est pas préalablement filtrée, il ne faut pas oublier d'utiliser les aiguilles et les filtres à seringues de 0,45 μm avant l'introduction de l'échantillon dans le vial.

Une image contenant texte, Équipe

Avant de commencer une analyse, il est essentiel de vérifier qu'il n'y a pas de bulles d'air dans la tuyauterie des pompes A et B au risque d'endommager la colonne et les pompes. S'il y a des présences de bulles d'air, veuillez-vous référer à la partie **Maintenance de l'appareil** en fin de notice afin d'effectuer l'amorçage des pompes.

Attention, Il est crucial d'adapter la phase mobile en fonction des caractéristiques spécifiques de l'échantillon à analyser pour obtenir des résultats précis et reproductibles en HPLC.

-

Échantillons Acides ou Basique : Pour les échantillons qui présentent des propriétés acides ou basiques, il est souvent nécessaire d'utiliser des **solutions tampons** dans la phase mobile. Les tampons maintiennent un pH constant, ce qui est essentiel pour stabiliser la rétention et la séparation des analytes sensibles au pH. Par exemple, un tampon phosphate peut être utilisé pour des échantillons à pH neutre à légèrement basique, tandis qu'un tampon acétate peut convenir pour des échantillons légèrement acides.

-

Analytes Neutres : Pour les analytes neutres, un simple mélange de solvants organiques comme l'eau/acétonitrile ou eau/méthanol peut suffire.

Lorsque des solutions tampons sont utilisées dans la phase mobile, il est impératif de rincer la colonne après chaque utilisation. Les tampons peuvent précipiter et s'accumuler dans la colonne, entraînant des obstructions, une perte de performance de la colonne et des problèmes de reproductibilité.

III / Configuration via le logiciel 32 Karat :

Attention, la partie suivante suppose que tous les matériels ont été installés et allumés.

Le système HPLC fonctionne sous le logiciel **32 Karat Software**. Il est possible de le lancer en cliquant directement sur son icône depuis le bureau. Ce logiciel permet d'acquérir les données provenant du détecteur mais également de configurer certains paramètres avant l'analyse d'échantillons, notamment le pourcentage eau/acétonitrile, le débit d'élution, le temps d'analyses, etc.

Une fois le logiciel lancé, une fenêtre avec les instruments configurés apparaît. Le terme **instrument** fait référence au système HPLC connecté à l'ordinateur. Le fait de configurer un instrument permet donc de choisir le système sur lequel on souhaite travailler. La chaîne HPLC présente au Fablab a déjà été configurée et est reconnu par l'instrument **Chaîne_fonctionnelle**. Il faut donc cliquer sur cet instrument.

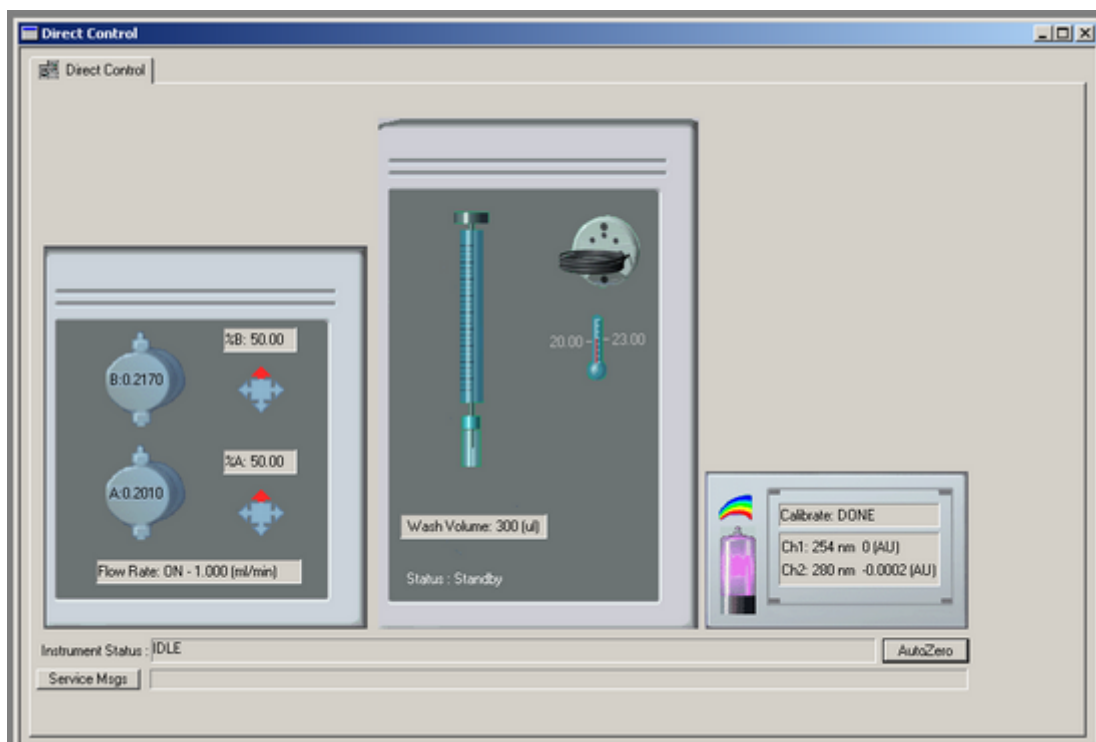
Lorsque l'on accède à l'instrument, une petite fenêtre **Instrument Wizard** apparaît, on peut la fermer. On tombe ensuite sur le chromatogramme du précédent test réalisé avec cet instrument, il ne faut pas en tenir compte.

a.
Direct Control

Afin de pouvoir contrôler le système HPLC depuis le logiciel, il faut accéder au panneau de contrôle **Direct Control**. Pour cela, il faut cliquer sur l'onglet **Control** puis sélectionner **Direct Control** dans le menu défilant.

L'interface Direct Control permet de sélectionner et de modifier immédiatement les paramètres de fonctionnement du système HPLC. L'écran Direct Control est utilisé pour contrôler l'instrument en cliquant avec la souris sur les zones interactives de la fenêtre. Ces zones activent soit la boîte de dialogue associée, permettant de modifier les paramètres de l'instrument, soit la tâche correspondante directement. L'écran Direct Control affiche également des messages de service indiquant l'activité actuelle de l'instrument et son état en temps réel.

On observe trois sous fenêtre dans l'interface de contrôle, chacune permettant de contrôler un module du système.



La sous fenêtre à gauche permet de contrôler les pompes et la phase mobile. On peut y définir le pourcentage d'eau et de solvant dans la phase mobile à l'état initial. Pour cela, il faut cliquer sur **%B** et régler le pourcentage de solvant (pompe B) que l'on souhaite depuis la boîte de dialogue qui apparaît. Le pourcentage d'eau (pompe A) se réglera automatiquement en fonction de ce que l'on met pour **%B**. On peut également choisir la valve de sélection du solvant en cliquant sur l'une des 4 flèches en dessous de **%B** et **%A**. Cela permet de choisir le chemin de tuyauterie que doit emprunter le solvant depuis la bouteille pour rejoindre les pompes. Par exemple, si c'est le tuyau **B1** que l'on utilise dans la bouteille de solvant B, il faudra régler la valve de sélection sur la **position 1** (flèche pointant vers le haut). La tuyauterie utilisée sur ce système correspond normalement aux tuyaux **A1** et **B1**, les valves de sélection sont normalement déjà réglées sur ces positions, il n'y a donc pas besoin de modifier ce paramètre. Ensuite, il est possible de régler le débit d'élution de la phase mobile. Pour cela, il faut cliquer sur **Flow Rate**, cocher la case **Flow ON** si ce n'est pas déjà fait et indiquer le débit sous lequel on souhaite travailler en face de **Flow rate**. Généralement, on travaille à **1 ml/min**.

Attention, il faut faire attention à ne JAMAIS dépasser 2 ml/min, par risque d'endommager considérablement les pompes, la tuyauterie et la colonne.

Enfin, il est possible de vérifier la pression des pompes et de régler les pressions minimales ou maximales en cliquant directement sur l'icône de chaque pompe.

La sous fenêtre au milieu permet de contrôler l'autosampler. Il est possible de nettoyer l'aiguille de l'autosampler en appuyant sur la grande icône d'aiguille. Cela permet de nettoyer l'aiguille avec l'isopropanol contenu dans la bouteille de lavage fixé sur l'autosampler. Il est recommandé de nettoyer l'aiguille lorsque l'on change d'échantillon. Le volume de nettoyage doit être trois fois supérieur au volume de la boucle (300 µl pour une boucle de 100 µl). Cela permet de s'assurer que tout résidu de l'échantillon précédent est complètement éliminé. Si plusieurs prélèvements sont effectués dans le même échantillon, il n'y a pas besoin de nettoyer l'aiguille entre les tests. Il est également possible d'activer l'option **Tray Cooling** en cliquant sur l'icône de thermomètre, si l'on souhaite régler une température spécifique pour le plateau de l'autosampler.

La petite sous-fenêtre à droite correspond au détecteur. L'option **Calibrate**, permet d'initier la procédure de calibration du détecteur. Pour cela, il faut cliquer sur **Calibrate** et cocher la case **ON** dans la boîte de dialogue apparaissant. En cliquant sur l'icône de la lampe, on peut allumer ou éteindre la lampe UV du détecteur. Si l'icône est rose, cela signifie que la lampe est allumée. Le détecteur 168 est un détecteur à barrette de diodes (DAD), cela signifie que l'on peut se placer sur deux longueurs d'ondes distinctes simultanément, contrairement à un détecteur UV classique. En cliquant sur **Ch1** en dessous de l'option de calibration, une boîte de dialogue apparaît. Le détecteur 168 possède deux **channel**. On peut définir la longueur d'onde de notre choix pour chaque **channel** en face de **Wavelength** ainsi que la bande passante en face de **Bandwith**. L'appareil est initialement réglé sur **254 nm et 280 nm** mais cela peut être ajusté en fonction de vos échantillons. Enfin, en dessous de la sous-fenêtre du détecteur se trouve un bouton **AutoZero**. Cela permet d'ajuster le détecteur à zéro, ce qui est nécessaire avant chaque analyse.

Suivez ces étapes à chaque lancement du logiciel :

Préparation initiale

- Depuis le panneau de contrôle, commencez par effectuer le zéro du détecteur en cliquant sur le bouton **AutoZero**.
- Ensuite, réalisez la calibration en cochant la case **ON** dans la boîte de dialogue correspondante. Attendez que le message **DONE** apparaisse en face de **Calibrate**.

Réglage des paramètres

- Réglez le pourcentage eau/acétonitrile que vous souhaitez utiliser.
- Activez le débit d'élution et réglez-le sur **1 ml/min**. **Attention, ne JAMAIS dépasser 2 ml/min.**
- Attendez que la pression des pompes A et B se stabilise, c'est-à-dire jusqu'à ce que la pression des deux pompes ne varie plus ou très peu.

Nettoyage de l'aiguille

- Si c'est votre première analyse ou si vous changez d'échantillon, nettoyez l'aiguille en cliquant sur la grande icône d'aiguille.

Vérification finale

- Assurez-vous que l'autozero et la calibration sont effectués, que le débit d'élution et le pourcentage de solvant sont réglés, que la pression des pompes est stable et que l'aiguille est propre.

Une fois ces étapes réalisées, le système HPLC sera bien préparé mais pas encore prêt à analyser l'échantillon. Il est crucial de rappeler que le panneau de contrôle permet de régler votre système en temps réel, mais ces paramètres peuvent changer lors d'une analyse si une méthode précise a été définie. Avant de lancer une analyse, il est donc essentiel de savoir créer et paramétrer une méthode appropriée.

b. Créer une méthode :

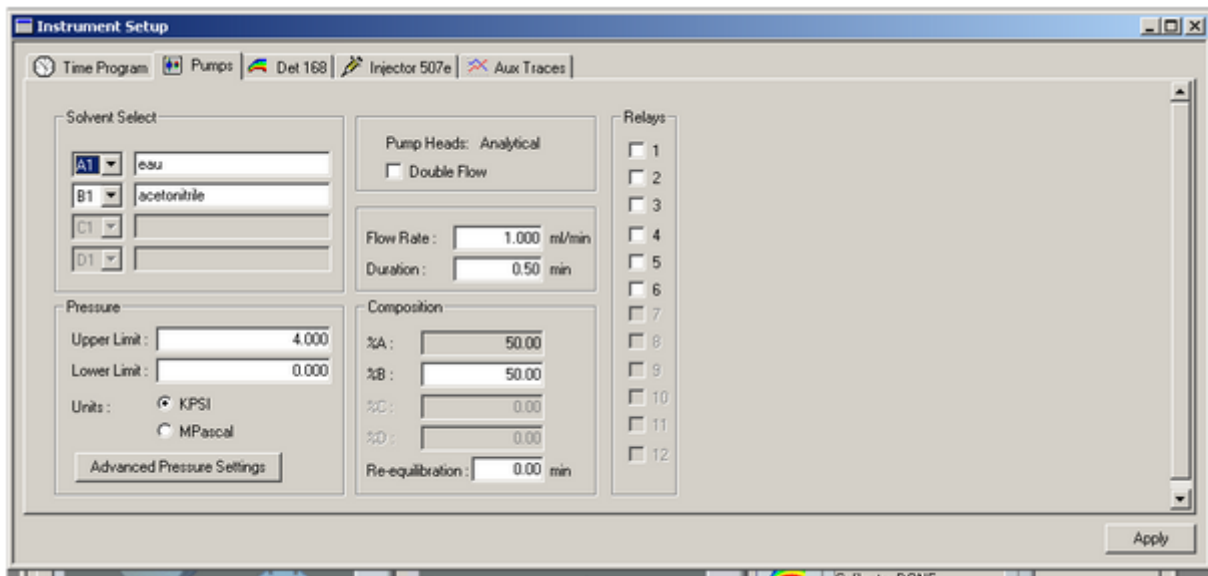
Le fait de créer une méthode va permettre d'attribuer à chaque module les paramètres qu'ils devront utiliser une fois l'analyse lancée mais également de définir le temps d'analyse total. Il est possible de créer plusieurs méthodes et de les enregistrer. Cela va donc permettre d'automatiser le processus d'échantillonnage.

Pour créer une méthode, il faut se rendre dans l'onglet **Files / Method / New**, ce qui ouvrira une nouvelle fenêtre appelée **Instrument Setup**. Il faut maintenant régler les paramètres de chaque module qui seront utilisés lors de l'analyse.

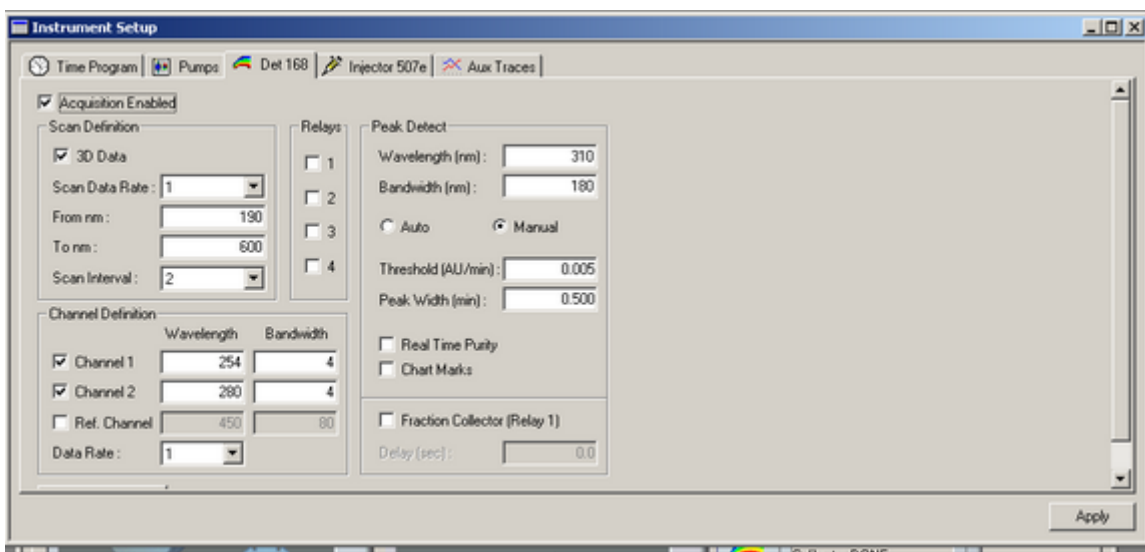
Une image contenant texte, capture d'écran, logiciel, Logiciel multimédiaD

Attention, les paramètres réglés dans **Instrument Setup** ne seront appliqués que lorsqu'une analyse sera lancée. Si vous souhaitez changer un des paramètres pour une autre analyse (ex : %B), il faut absolument rouvrir **Instrument Setup** et effectuer vos changements. Le fait de modifier les paramètres depuis le panneau **Direct Control** n'aura aucun impact lorsque vous relancerez une analyse.

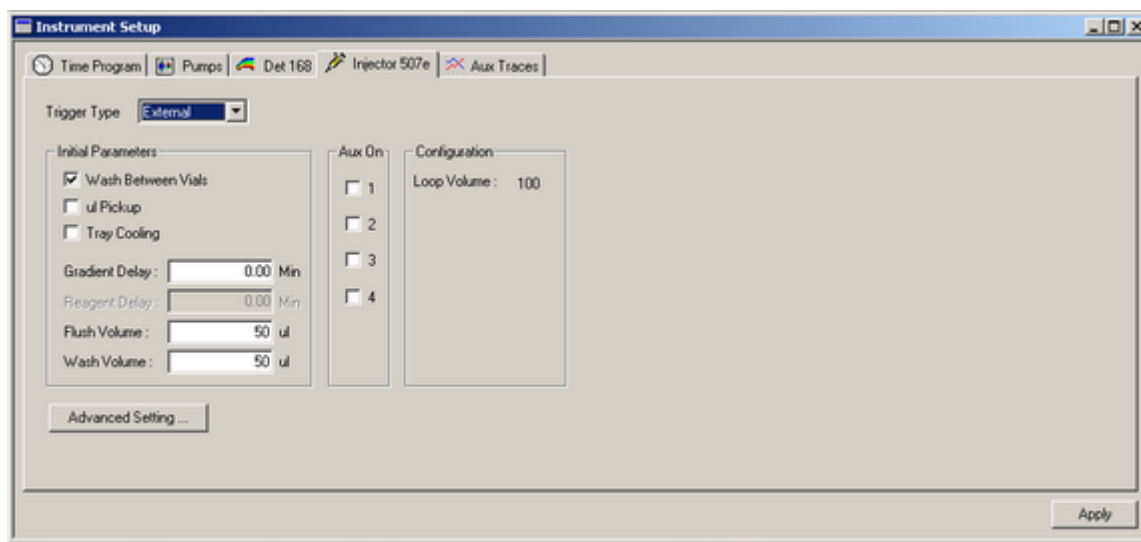
Après avoir cliqué sur l'onglet **Pumps**, commencez par régler le débit d'élution en entrant **1 ml/mn** en face de **Flow Rate** et **0.50 min** en face de **Duration**. Vous pouvez nommer vos solvant dans les champs d'écriture à côté de **A1** et **B1**. Réglez ensuite le pourcentage de solvant en face de **%B** (idéalement 50%) ainsi que la pression maximale sur **4.000 KPSI**.



Dans l'onglet **Det 168**, cochez l'option **Acquisition Enabled** et **3D Data** si ce n'est pas déjà fait. Cochez également **Channel 1** et **Channel 2** et définissez les longueurs d'ondes sur lesquels vous souhaitez travailler. Ne pas toucher aux autres paramètres.



Dans l'onglet **Injector 507e**, cochez l'option **Wash Between Vials** et sélectionnez **External** en face de **Trigger Type**.



Une fois les réglages des modules effectués, nous allons pouvoir régler le mode et le temps d'analyse dans l'onglet **Time Program**.

Avant d'aborder une analyse, il faut savoir si vous souhaitez travailler en mode **isocratique** ou en mode **gradient**. Le mode isocratique utilise une composition de phase mobile constante tout au long de l'analyse. Cela signifie que le ratio des solvants reste inchangé, ce qui simplifie la méthode et peut être suffisant pour des échantillons simples où les composés ont des propriétés similaires. En revanche, le mode gradient implique une variation progressive de la composition de la phase mobile au cours de l'analyse. Cette variation peut être linéaire ou non-linéaire et est utilisée pour améliorer la séparation des composés dans des mélanges complexes. Le mode gradient est particulièrement utile pour les échantillons contenant des analytes avec des polarités très différentes ou des temps de rétention variés, permettant ainsi d'obtenir une meilleure résolution et des temps d'analyse plus courts.

1.

Réglages mode isocratique

Pour une analyse en mode isocratique, vous aurez juste à paramétrer le moment d'arrêt de l'analyse ainsi que l'autozero. Dans **Time**, il faut entrer 0,50 min, dans **Module** sélectionner **DET 168** et dans **Function** sélectionner **Autozero**. Il faut ensuite sélectionner la deuxième ligne et entrer le temps d'analyse total souhaité (par exemple 10.00 min) dans **Time**, sélectionner le même détecteur et choisir **Stop Data** dans **Function**.

Instrument Setup

Time Program | Pumps | Det 168 | Injector 507e | Aux Traces

Total Run Time : 10.00 minutes

#	Time (min)	Module	Function	Value	Duration (min)
1	0.50	Det 168	Autozero		
2	10.00	Det 168	Stop Data		
3	0.00				

Apply

2. Réglages mode gradient

Pour une analyse en mode gradient, il faut d'abord appliquer les paramètres du mode isocratique. Afin de faire varier la composition de la phase mobile au bout d'un certain moment, il faut sélectionner **Pump** dans les modules, choisir **%B** dans les fonctions, définir le pourcentage souhaité dans **Value** et le temps durant lequel ce pourcentage sera appliqué dans **Duration**. Il faut également définir le moment où cette variation va avoir lieu dans **Time**.

Instrument Setup

Time Program | Pumps | Det 168 | Injector 507e | Aux Traces

Total Run Time : 10.00 minutes

#	Time (min)	Module	Function	Value	Duration (min)
1	0.50	Det 168	Autozero		
2	10.00	Det 168	Stop Data		
3	6.00	Pump	%B	60.00	1.00
4	0.00				

Apply

Il ne faut pas oublier d'enregistrer sa méthode pour pouvoir la réutiliser une prochaine fois. Pour cela, il faut sélectionner **File/Method/Save as**.

Une fois la méthode créée, il est possible de passer à l'analyse de notre échantillon.

c.

Lancer une analyse :

Avec le système HPLC du Fablab, il est possible de choisir entre deux modes d'analyse en fonction de vos besoins expérimentaux. Après avoir placé votre échantillon à analyser dans l'autosampler, vous pouvez opter pour une **analyse unique**, où un seul échantillon est injecté dans le système, permettant ainsi une évaluation précise et individuelle de cet échantillon. Alternativement, vous avez la possibilité de lancer une **séquence d'analyses**, où plusieurs échantillons sont injectés successivement. Cette approche est particulièrement avantageuse pour les études comparatives ou les séries d'échantillons, car elle permet une gestion automatisée et efficace de plusieurs analyses, réduisant ainsi le temps de manipulation et augmentant la productivité globale du processus d'analyse.

3.

Pour lancer une analyse unique :

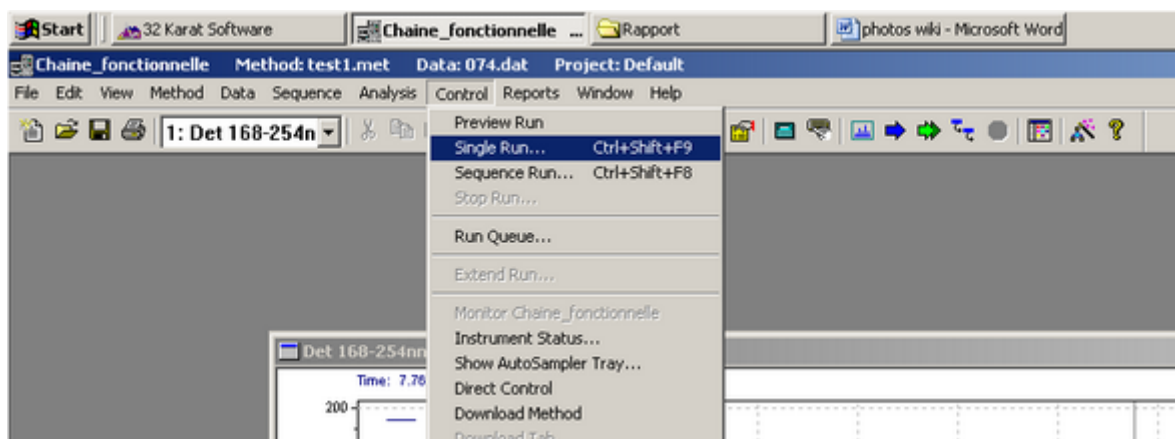
Préparation de l'échantillon :

- Placez votre vial contenant l'échantillon en position 1 dans l'autosampler et assurez-vous qu'il est bien fermé avec son septum.

Configuration de l'analyse :

-

Rendez-vous dans l'onglet **Control** et sélectionnez **Single Run**, ou cliquez directement sur la flèche bleue dans la barre d'outils. La fenêtre **Single Run Acquisition** apparaît.



- Vérifiez que la méthode précédemment créée est bien sélectionnée en face de **Method**.
- Nommez l'échantillon en face de **Sample ID**.
- Définissez le nom du fichier sous lequel il sera enregistré en face de **Data File**.
- Choisissez l'emplacement où il sera enregistré en face de **Data path**.

Vérification des paramètres :

- Assurez-vous que le numéro en face de **Vial** correspond à la position de votre échantillon dans l'autosampler. Si votre échantillon est en position 1, laissez le numéro 1.
- Gérez le volume d'injection de l'échantillon si nécessaire.

- Ne modifiez pas les autres paramètres.

Lancement de l'analyse :

- Une fois toutes les vérifications faites, appuyez sur **Start** pour lancer l'analyse.

4.

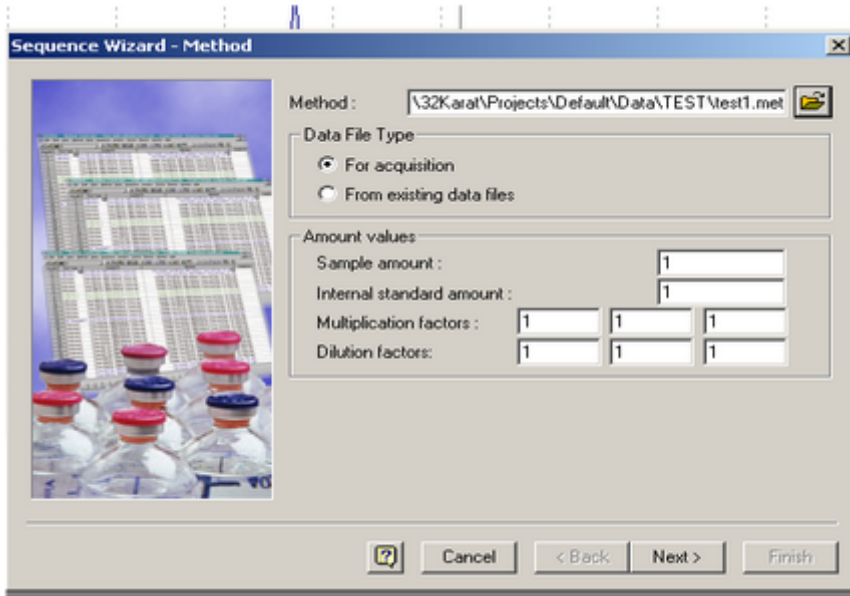
Pour lancer une séquence d'analyses :

Préparation des échantillons :

- Placez vos échantillons à analyser les uns à la suite des autres, dans l'ordre numérique, sur l'autosampler.

Configuration de la séquence :

- Rendez-vous dans l'onglet **File / Sequence / Sequence Wizard**.



Sequence Wizard - Method

Method :

Data File Type

☒ For acquisition

☐ From existing data files

Amount values

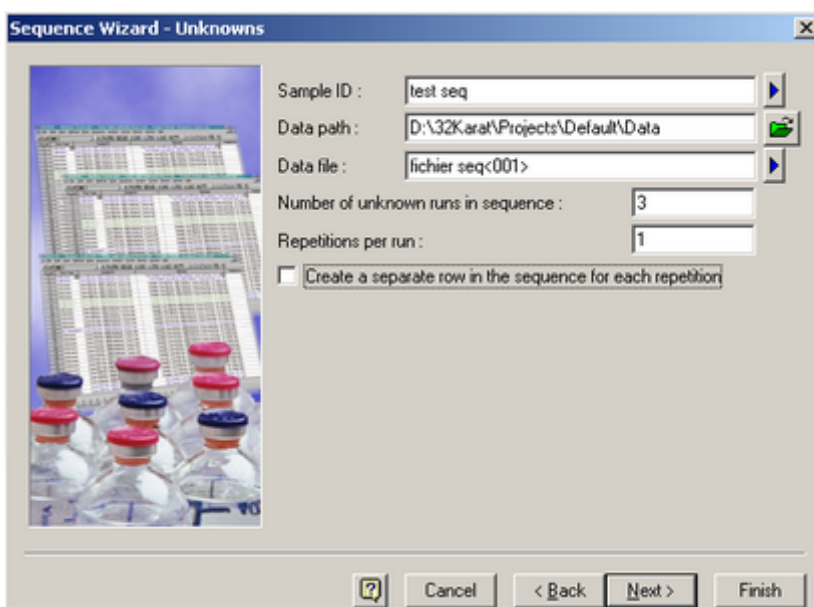
Sample amount :

Internal standard amount :

Multiplication factors :

Dilution factors :

- En face de **Method**, sélectionnez votre méthode si ce n'est pas déjà fait, puis cliquez sur **Next**.
- Définissez le nom de votre séquence en face de **Sample ID** et le nom de fichier de votre séquence en face de **Data File**.
- Cliquez sur la flèche bleue en face de **Data File** et sélectionnez **Increment Number**.
- Entrez **3** en face de **Number of unknown runs** et cliquez sur **Next**.



Sequence Wizard - Unknowns

Sample ID :

Data path :

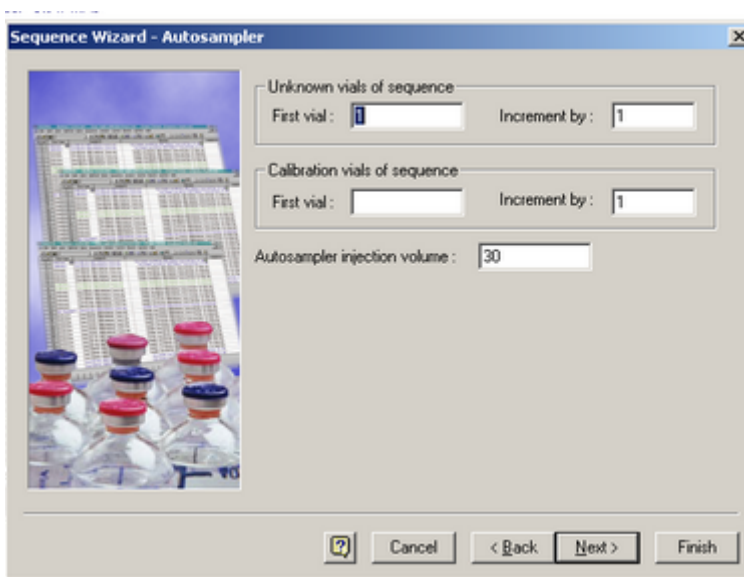
Data file :

Number of unknown runs in sequence :

Repetitions per run :

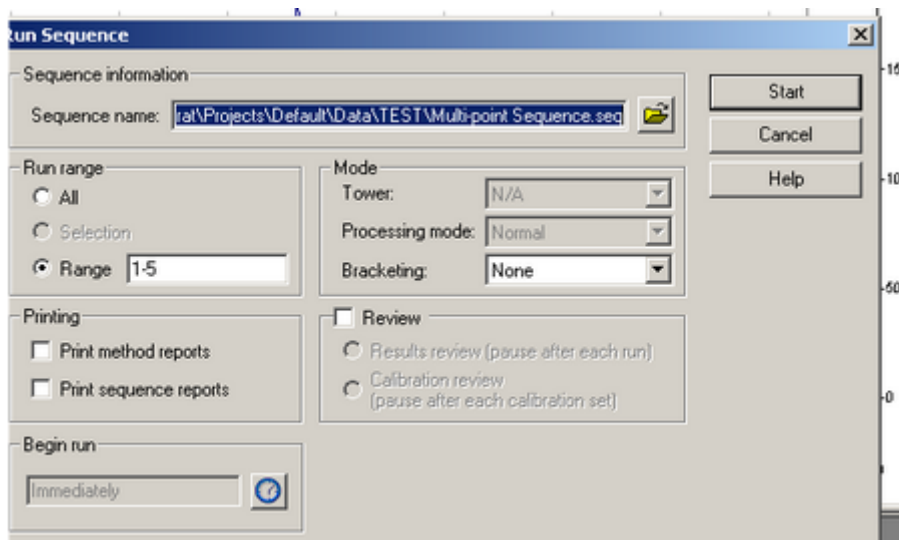
☐ Create a separate row in the sequence for each repetition

- Définissez le volume d'injection de la séquence et cliquez sur **Finish**.
- Enregistrez la séquence que vous venez de créer dans l'onglet **File / Sequence / Save as** et nommez-la.



Lancement de la séquence :

- Rendez-vous dans l'onglet **Control** et sélectionnez **Sequence Run**, ou cliquez directement sur la flèche verte dans la barre d'outils.



- Assurez-vous que votre séquence est bien sélectionnée en face de **Sequence name**.
- Cochez la case **Range** et désignez l'ordre de placement des vials sur l'autosampler. Par exemple, si vous souhaitez analyser 5 échantillons placés de la position 1 à 5, entrez **1-5** en face de **Range**.
- Cliquez sur **Start** pour lancer la séquence d'analyses.

d.

Observation et interprétation des chromatogrammes

Juste après avoir lancé une analyse, il est possible d'observer les chromatogrammes aux longueurs d'ondes prédéfinis en temps réel. Pour cela, il suffit de cliquer sur les onglets « **DET 168 - 254nm** » en bas de l'écran. Il est également possible de profiter de l'analyse en 3D du détecteur PDA et d'avoir une vue globale sur plusieurs graphes. Pour cela, il faut cliquer sur **View / PDA View / Mixed View**.

Une fois l'analyse terminée, on obtient un chromatogramme mal intégré. Afin de l'intégrer correctement, deux paramètres importants sont à prendre en compte :

-

Fonction **Threshold** : Cette fonction va permettre de définir la ligne de base et d'éliminer les pics que l'on ne souhaite pas intégrer. Après avoir cliqué sur le chromatogramme que l'on souhaite intégrer, Il faut sélectionner l'option Threshold dans la barre d'outils en bas (deuxième logo en partant de la gauche). Une fois sélectionné, il faut cliquer sur le début de la ligne de base, soit un peu après 0, puis cliquer une deuxième fois juste avant le premier pic que l'on souhaite intégrer. Il faut ensuite cliquer sur « **Analyze Now** » dans la boîte de dialogue qui apparaît.

- Fonction **Width** : Cette fonction va permettre de connaître la largeur exacte d'un pic et donc d'intégrer efficacement le graphique. Pour cela, il faut cliquer sur la fonction Width dans la barre d'outils en bas (premier logo à gauche), cliquer au début du pic le plus intense puis à la fin de ce même pic. Il faut ensuite cliquer sur « **Analyze Now** » dans la boîte de dialogue qui apparaît.

IV/ Maintenance de l'appareil :

a.

Amorçage des pompes : Bulles d'air dans la tuyauterie :

Avant de commencer une analyse, il est essentiel de vérifier qu'il n'y a pas de bulles d'air dans la tuyauterie des pompes A et B. Le système HPLC utilise normalement trois bouteilles de solvant : une contenant le solvant A (eau) à droite, une contenant le solvant **B** (acétonitrile) à gauche, et une troisième servant de bouteille poubelle utilisée lors du désamorçage de la pompe. Si vous changez de solvant ou si vous apercevez des bulles d'air, il est impératif de procéder à un amorçage des pompes pour éliminer ces bulles. Voici les étapes à suivre pour amorcer les pompes, en prenant la pompe A comme exemple. Ces étapes devront être répétées pour la pompe B.

Préparation :

- Placez une seringue de 10 ml dans le Prime Port A, situé juste en dessous du levier d'amorçage A.
-

Ouvrez le robinet de vidange en tournant complètement le bouchon dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. Cela permet de protéger la colonne en changeant le chemin d'élution de la phase mobile, dirigeant ainsi le solvant directement vers la bouteille poubelle sans passer par la colonne.

Amorçage :

-

Tournez le levier d'amorçage de la pompe A vers la position **Prime Lines**.

-

Aspirez le solvant dans les tuyaux en tirant lentement sur le piston de la seringue. Continuez à aspirer jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de bulles d'air entre la bouteille de solvant et la seringue.

-

Remplissez ensuite la seringue de solvant.

-

Tournez le levier d'amorçage vers la position **Prime Pump** et appuyez sur le piston de la seringue pour forcer le solvant à sortir à travers la ligne de drainage vers la bouteille de déchets.

-

Lorsque plus aucune bulle d'air n'est observée dans les tuyaux, arrêtez d'appuyer sur la seringue et tournez le levier d'amorçage vers la position **Operate**.

Finalisation :

-

Accédez au panneau de contrôle **Direct Control** depuis 32 Karat et configurez la pompe A à 100% et la pompe B à 0%, puis réglez le flux à 2 ml/min.

-

Faites couler la phase mobile pendant 2 à 3 minutes pour vous assurer qu'il n'y a plus de bulles.

- Répétez exactement les mêmes étapes depuis **Préparation** avec la pompe B.

Une fois les deux pompes amorcées, vous pouvez refermer le robinet de vidange en tournant complètement le bouchon dans le sens horaire, afin de rétablir le chemin d'élution de la phase mobile vers la colonne. En suivant ces étapes, vous assurerez un bon fonctionnement de votre système HPLC sans présence de bulles d'air dans les lignes de solvant.

Une image contenant int

b.

Changement de colonne :

Le changement de colonnes en HPLC est une opération délicate qui nécessite des précautions spécifiques pour garantir la performance de la colonne et la précision des analyses futures. Voici les étapes à suivre et les précautions à prendre pour changer de colonne de manière sûre et efficace.

Arrêt du Flux de la Phase Mobile :

•

Avant de déconnecter la colonne, assurez-vous que le flux de la phase mobile est complètement arrêté. Cela évite les éclaboussures et réduit le risque de contamination.

Déconnexion de la Colonne :

-

Déconnectez soigneusement la colonne des lignes d'entrée et de sortie. Veillez à ne pas endommager les filetages ni les connexions.

-

Notez l'orientation de la colonne (entrée et sortie) pour faciliter le remontage ou le stockage correct.

Rinçage de la Colonne (si nécessaire) :

-

Si la colonne doit être stockée pour une période prolongée ou si vous avez utilisé une phase mobile contenant des tampons, rincez-la d'abord avec de l'eau déionisée, puis avec un solvant organique (comme l'acétonitrile ou le méthanol) pour éliminer tous les résidus.

Bouchonnage de la Colonne :

-

Précaution essentielle : Fermez immédiatement les extrémités de la colonne avec des bouchons hermétiques pour éviter que la colonne ne sèche. L'exposition à l'air peut entraîner l'évaporation du solvant, ce qui peut causer des dommages permanents à la phase stationnaire.

-

Assurez-vous que les bouchons sont bien serrés et que la colonne est correctement scellée.

Stockage de la Colonne :

-

Stockez la colonne dans un endroit frais et sec, à l'abri de la lumière directe et des variations de température.

-

Étiquetez la colonne avec des informations pertinentes telles que le type de colonne, le dernier solvant utilisé, et la date du dernier usage pour une référence future.

Préparation de la Nouvelle Colonne :

-

Avant de connecter une nouvelle colonne, vérifiez les recommandations du fabricant concernant le solvant d'équilibrage et les conditions de démarrage.

Connexion de la Nouvelle Colonne :

-

Connectez la colonne en respectant l'orientation indiquée (entrée et sortie). Serrez les connexions fermement mais sans forcer pour éviter d'endommager les filetages.

Équilibrage de la Colonne :

-

Rincez la nouvelle colonne avec le solvant de démarrage recommandé pour éliminer les conservateurs et pour équilibrer la colonne avant l'analyse.

-

Laissez le solvant circuler à un débit faible pendant quelques minutes jusqu'à ce que la pression se stabilise et que la ligne de base soit stable.